

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number :

2000-088751

(43)Date of publication of application : 31.03.2000

(51)Int.Cl.

G01N 21/64

G02B 21/24

(21)Application number : 10-261410

(71)Applicant : OLYMPUS OPTICAL CO LTD

(22)Date of filing : 16.09.1998

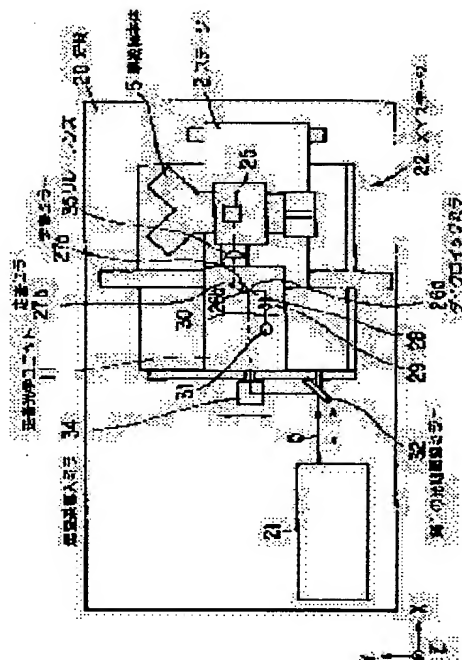
(72)Inventor : KATO KUNIO
KISHI YOSUKE

(54) LASER MICROSCOPE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To prevent a sample from being vibrated carelessly by preventing an optical axis from deviating due to the move of an XY stage even when light cannot be guided by a fiber.

SOLUTION: A laser microscope is provided with an extremely short pulse laser oscillator 21 for outputting a laser beam, an XY stage 22 with an X stage that can travel in an X-axis direction and a Y stage that can travel in a Y-axis direction, a stage 2 for placing the sample for separating from the XY stage 22, a microscope body 5 that is provided with a scanning optical system 11 for scanning the sample on the stage 2 with a laser beam and is fixed and arranged on the XY stage, a mirror 34 that is fixed to follow the move of the Y stage and guides a laser beam to the scanning optical system 11, a mirror that is provided at the Y stage and guides the laser beam to the mirror 34, and a mirror 32 that is provided at the X stage and guides the laser beam to the mirror.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the
examiner's decision of rejection or application converted
registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of
rejection][Date of requesting appeal against examiner's decision of
rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

Best Available Copy

6/8

(19)日本国特許庁 (J P)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-88751

(P 2 0 0 0 - 8 8 7 5 1 A)

(43)公開日 平成12年3月31日(2000.3.31)

(51)Int. Cl. 7

識別記号

F I

テモト* (参考)

G 0 1 N 21/64

G 0 1 N 21/64

E

2C043

G 0 2 B 21/24

G 0 2 B 21/24

2H052

審査請求 未請求 請求項の数1 OL (全 6 頁)

(21)出願番号

特願平10-261410

(22)出願日

平成10年9月16日(1998. 9. 16)

(71)出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

(72)発明者 加藤 邦夫

埼玉県川口市本町4丁目1番8号 科学技術
振興事業団内

(72)発明者 岸 陽介

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリン
パス光学工業株式会社内

(74)代理人 100058479

弁理士 鈴江 武彦 (外4名)

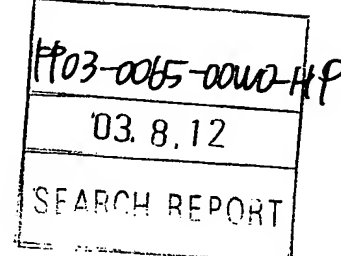
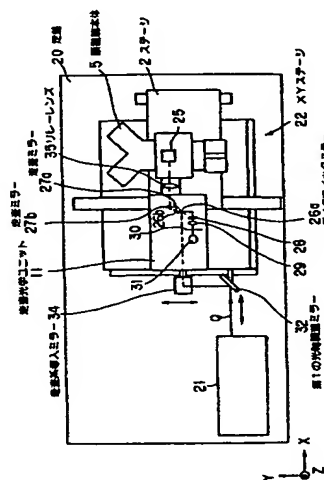
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 レーザ顕微鏡

(57)【要約】

【課題】本発明は、ファイバーによる導光ができない場合でもXYステージの移動によって光軸のずれが起こらずに標本に不用意な振動を与えることがない。

【解決手段】レーザ光を出力する極短パルスレーザ発振器21と、X軸方向に移動可能なXステージとY軸方向に移動可能なYステージとを備えたXYステージ22と、XYステージ22から離間するように標本を載置するためのステージ2と、ステージ2上の標本に対してレーザ光を走査させる走査光学系11を備えXYステージ上に固定配置された顕微鏡本体5と、Yステージの移動に追従するように固定され走査光学系11へレーザ光を導くためのミラー34と、Yステージに設けられミラー34にレーザ光を導くためのミラー33と、Xステージに設けられミラー33にレーザ光を導くためのミラー32と、を備えた。



1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 レーザ光を出力するレーザ光源と、
X軸方向に移動可能なXステージとY軸方向に移動可能なYステージとを備えたXYステージと、
前記XYステージから離間するように標本を載置するための標本載置台と、
前記標本載置台上の前記標本に対して前記レーザ光を走査させる走査光学系を備え前記XYステージ上に固定配置された顕微鏡本体と、
前記Yステージの移動に追従するように固定され前記走査光学系へ前記レーザ光を導くための走査系導入手段と、
前記Yステージに設けられ前記走査系導入手段に前記レーザ光を導くための第1の光軸調整手段と、
前記Xステージに設けられ前記第1の光軸調整手段に前記レーザ光を導くための第2の光軸調整手段と、を具備したことを特徴とするレーザ顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、例えば標本にコヒーレント光を照射し2光子現象を起こして標本の観察を行うためのコヒーレント光の導入手段を改善したレーザ顕微鏡に関する。

【0002】

【従来の技術】 顕微鏡下で標本に対して電気生理や細胞操作などの接触操作を行う場合には、外部からの振動はその接触操作の妨げになり、標本を破壊する虞がある。このような顕微鏡の外部からの振動を除去するために、標本を搭載したステージは、定盤に固定し、かつ顕微鏡本体を水平平面方向に可動に構成することで、例えば標本に接触した電気生理用の電極やマニピュレータに対して不用意に振動を与えることなく視野を移動させることができる。

【0003】 図4はかかる標本を載置するステージを備え、顕微鏡本体をさらに他のステージに搭載して可動するようにした顕微鏡の公知の基本的な構成図である。定盤1上には、標本用のステージ2が設けられ、このステージ2上に標本3が載置される。

【0004】 又、標本用のステージ2とは別に定盤1上には、顕微鏡本体用のXYステージ4が設けられている。このXYステージ4は、各板4a～4cから成るので、このうち板4aは定盤1上に固定され、板4bは図面上左右方向に移動し、板4cは図面に対して垂直方向に移動するものとなっている。そして、このXYステージ4上には、顕微鏡本体5として落射照明系6、対物レンズ7、接眼レンズ8及び撮像光学素子9が設けられている。

【0005】 従って、顕微鏡本体5は、XYステージ4の各板4b、4cの駆動によりXYに移動し、標本3を載置するステージ2に対して対物レンズ7の位置を水平

2

平面上で移動できるようにしている。なお、標本3への焦点合わせは、対物レンズ7の上下動によって行われる。

【0006】 このような構成の顕微鏡の作用を説明すると、落射照明系6を通った照明光は、対物レンズ7によって標本3上に集光される。この照明によって標本3からは蛍光若しくは反射光が発せられ、これら蛍光若しくは反射光は、再び対物レンズ7を通して接眼レンズ8若しくは撮像光学素子9によって標本3の像として観察することができる。

【0007】 このときの標本3の観察位置は、顕微鏡本体5を搭載するXYステージ4の各板4b、4cを水平方向でXYに駆動して顕微鏡本体5を移動させることにより所望の観察部位に移すことができ、かつ標本3への焦点合わせは、対物レンズ7の上下動によって行われる。

【0008】 そして、標本3に対して電気生理や細胞操作などの接触操作を行う場合は、例えば標本3に対して電気生理用の電極やマニピュレータ10を接触させて行うものとなる。

【0009】 このような顕微鏡であれば、通常の顕微鏡のように標本3を搭載したステージ(2)を上下動させることなく、すなわち標本3並びにこの標本3に接触しているマニピュレータ10に対して不用意な振動を与えることなく、標本3の位置決め、焦点合わせができる。

【0010】 一方、上記標本3の観察をレーザ顕微鏡に応用させる場合について説明すると、撮像光学素子9の代わりに、走査光学ユニット11を顕微鏡本体5に設置し、この走査光学ユニット11に対してファイバ=1.2等30のフレキシブルな素材を介してレーザ光源13を接続するものとなる。

【0011】 このような構成であれば、レーザ光源13から出力されたコヒーレント光は、ファイバ=12により走査光学ユニット11に導かれて対物レンズ7の像面に走査され、この対物レンズ7によって標本3上に集光される。このコヒーレント光の照射によって励起された標本3からの蛍光は、再び対物レンズ7を通して走査光学ユニット11に導かれて、走査光学ユニット11内に設置された光学変換素子31に入射される。この光学変換素子31からの出力を画像として構築することにより標本3の像として観察することができる。

【0012】 そして、標本3の観察位置は、上記同様に顕微鏡本体5を搭載するXYステージ4の各板4b、4cを水平方向でXYに駆動して顕微鏡本体5を移動させることにより所望の観察部位に移すことができる。

【0013】 このような観察部位の移動の際、レーザ光源13から出力されるコヒーレント光がファイバ=12等のフレキシブルな素材で導かれて走査光学ユニット11に導かれれば、XYステージ4の駆動に伴うコヒーレント光の光軸のずれは発生しない。

10

20

30

40

50

【0014】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、2光子現象を起こして標本3を観察する場合には、光源として極短パルスレーザ発振器が用いられる。この極短パルスレーザ発振器を上記した構成のレーザ光源に適用すると、極短パルスレーザ発振器から出力された極短パルスレーザ光がファイバー12を透過することによってそのパルス幅が伸び、標本3面における2光子現象が起こりにくくなったり、場合によっては2光子現象が起こらない可能性がある。このため、2光子現象を引き起こすための極短パルスレーザ光を使用する場合には、ファイバー12によって極短パルスレーザ光を走査光学ユニット11に導光することができない。

【0015】本発明は、ファイバーによる導光ができない場合でもステージの移動によって光軸のずれが起こらずに標本に不用意な振動を与えることがないレーザ顕微鏡を提供することを目的とする。

【0016】

【課題を解決するための手段】請求項1によれば、レーザ光を出力するレーザ光源と、X軸方向に移動可能なXステージとY軸方向に移動可能なYステージとを備えたXYステージと、XYステージから離間するように標本を載置するための標本載置台と、標本載置台上の標本に対してレーザ光を走査させる走査光学系を備えXYステージ上に固定配置された顕微鏡本体と、Yステージの移動に追従するように固定され走査光学系へレーザ光を導くための走査系導入手段と、Yステージに設けられ走査系導入手段にレーザ光を導くための第1の光軸調整手段と、Xステージに設けられ第1の光軸調整手段にレーザ光を導くための第2の光軸調整手段と、を備えたレーザ顕微鏡である。

【0017】

【発明の実施の形態】以下、本発明の一実施の形態について図面を参照して説明する。なお、図4と同一部分には同一符号を付してその詳しい説明は省略する。図1はレーザ顕微鏡の平面構成図であり、図2は左側面からの構成図、図3は正面構成図である。

【0018】定盤20上には、光源として極短パルスレーザ発振器21、XYステージ22及び標本3を載置するための標本用のステージ（標本載置台）2が設けられている。

【0019】極短パルスレーザ発振器21は、2光子現象を引き起こすための波長の極短パルスレーザ光Qを出力する機能を有している。XYステージ22は、固定ステージ22a、Xステージ22b及びYステージ22cを重ねた構成となっている。このうち固定ステージ22aは、定盤20上に固定されており、この固定ステージ22a上には、Xステージ22bがX方向つまり極短パルスレーザ発振器21から出力される極短パルスレーザ光Qの光軸方向と同一方向に移動自在に設けられてい

る。そして、このXステージ22b上には、Yステージ22cがY方向つまり極短パルスレーザ発振器21から出力される極短パルスレーザ光Qの光軸方向に対して垂直方向（Xステージ22bの移動方向に対して垂直方向）に移動自在に設けられている。

【0020】このXYステージ22上には、支持柱23によって走査光学ユニット11が設けられるとともに、顕微鏡本体5として落射照明系6、結像レンズ24、対物レンズ7、接眼レンズ8、撮像光学素子9、さらに走査光学ユニット11からの極短パルスレーザ光を結像レンズ24へ導くミラー25が設けられている。

【0021】走査光学ユニット11は、ダイクロイックミラー26aと26b、及び互いに直交方向に走査する各走査ミラー27a、27bが設けられ、かつダイクロイックミラー26aの透過光路上に測光フィルタ28、レンズ29、ピンホール30及び光電変換素子31が配置されている。

【0022】従って、走査光学ユニット11は、極短パルスレーザ発振器21からの極短パルスレーザ光Qをダイクロイックミラー26a、ミラー26bで反射し各走査ミラー27a、27bで走査してリレーレンズ35を通して顕微鏡本体5に送り、かつ顕微鏡本体5で標本3から発生した蛍光を各走査ミラー27b、27a、ミラー26bからダイクロイックミラー26aを透過して測光フィルタ28、レンズ29、ピンホール30を通して光電変換素子31に導くものとなっている。

【0023】上記XYステージ22のXステージ22bには、第2の光軸調整手段としてのミラー32が固定して設けられ、Xステージ22bの移動とともに極短パルスレーザ光の光軸方向と同一方向（X軸方向）に移動するものとなっている。このミラー32は、極短パルスレーザ光Qを垂直方向つまりY軸方向に反射する角度に設けられている。

【0024】又、Yステージ22cには、第1の光軸調整手段としてのミラー33が固定して設けられ、Yステージ22cの移動とともに極短パルスレーザ光Qの光軸方向に対して垂直方向（Y軸方向）つまりに移動するものとなっている。このミラー33は、ミラー32で反射した極短パルスレーザ光Qを垂直の上方方向つまりZ軸方向に反射する角度に設けられている。

【0025】さらに、ミラー33で反射した極短パルスレーザ光Qの光路上の走査光学ユニット11には、走査系導入手段としてのミラー34が固定されて設けられている。このミラー34は、ミラー33で反射した極短パルスレーザ光を反射して走査光学ユニット11内のダイクロイックミラー26aに導く角度に設けられている。

【0026】次に上記の如く構成されたレーザ顕微鏡の作用について説明する。極短パルスレーザ発振器21から出力された極短パルスレーザ光Qは、ミラー32、33及びミラー34でそれぞれ反射して走査光学ユニット

11に入射する。

【0027】この走査光学ユニット11内は、極短パルスレーザ光Qをダイクロイックミラー26a、ミラー26aで反射し、各走査ミラー27a、27bでレーザ光Qを2次元に走査してリレーレンズ35を通して顕微鏡本体5に送る。

【0028】この顕微鏡本体5では、2次元に走査された極短パルスレーザ光Qをミラー25で反射し、結像レンズ24を通して対物レンズ7の瞳径を満足するような光束径に変換して対物レンズ7に送り、この対物レンズ7によって標本3の断面3a上に集光する。

【0029】標本3で発生した蛍光は、対物レンズ7から結像レンズ24、ミラー25、リレーレンズ35を通過して走査光学ユニット11に戻り、各走査ミラー27b、27a、ミラー26bを反射してダイクロイックミラー26aを透過し、さらに測光フィルタ28で蛍光波長が選択され、レンズ29によってピンホール30面で結像し、このピンホール30を通過して光電変換素子31で計測される。

【0030】このような標本3の観察でその観察視野を移動させる場合は、XYステージ22のXステージ22b及びYステージ22cをそれぞれ駆動して走査光学ユニット11及び顕微鏡本体5をXY平面上に移動させるものとなる。

【0031】Xステージ22bは、極短パルスレーザ光Qの光軸方向と同一方向(X軸方向)に移動するものであり、このXステージ22bと一体となってミラー32も極短パルスレーザ光Qの光軸方向と同一方向に移動する。これにより、Xステージ22bが移動しても極短パルスレーザ光Qのミラー32に当たる位置は変わらない。

【0032】又、Yステージ22cは、極短パルスレーザ光Qの光軸方向に対して垂直方向(Y軸方向)に移動するものであり、このYステージ22cと一体となってミラー33も極短パルスレーザ光Qの光軸方向に対して垂直方向に移動する。これにより、Yステージ22cが移動しても、ミラー32で反射してくる極短パルスレーザ光Qのミラー33に当たる位置も変わらない。

【0033】さらに、ミラー33、ミラー34、走査光学ユニット11及び顕微鏡本体5は、共にYステージ22c上に設けられているので、ミラー33に当たる極短パルスレーザ光Qの位置が変わらなければ、XYステージ22の移動、すなわち観察視野を移動させるための走査光学ユニット11及び顕微鏡本体5のXY平面上の移動に関係なく、走査光学ユニット11に入射する極短パルスレーザ光Qの光軸はずれることはない。

【0034】このように上記一実施の形態においては、極短パルスレーザ発振器21から出力される極短パルスレーザ光Qの光軸方向と同一方向に移動するXステージ22bと、極短パルスレーザ発振器21から出力される

極短パルスレーザ光Qの光軸方向に対して垂直方向に移動し、かつ走査光学ユニット11及び顕微鏡本体5を搭載するYステージ22cと、これらX及びYステージ22b、22cにそれぞれ設けられ、光源から出力された極短パルスレーザ光Qを走査光学ユニット11に導くミラー32、33とを備えたので、ファイバーによる導光が困難な標本3の観察、例えば極短パルスレーザ光Qを標本3に照射して2光子現象を引き起こして標本3を観察する場合でも、標本3の観察視野を移動させるためにXYステージ22を駆動して走査光学ユニット11及び顕微鏡本体5をXY平面上で移動してもこの移動に関係なく、走査光学ユニット11に入射する極短パルスレーザ光Qの光軸がずれることはない。そのうえ、標本3に対して不用意な振動を与えることなく観察視野の移動ができるので、これにより、ファイバーを用いた場合のように、極短パルスレーザ光Qのパルス幅が伸びて標本3面における2光子現象が起りにくくなったり、場合によっては2光子現象が起らないということはない。

【0035】なお、上記実施の形態では、2光子現象を起こさせるために第1及び第2の光軸調整手段と走査系導入手段として、それぞれにミラーを用いたが、2光子現象を起こさせる必要がなければ特にミラーに限られるものではなく、例えばプリズムを用いることもできる。又、それぞれミラー1枚で反射するようにしているが、ミラーとミラーとの間にミラーや光学素子等を入れて光路を偏向してもよい。

【0036】

【発明の効果】以上詳記したように本発明によれば、ファイバーによる導光ができない場合でもXYステージの移動によって光軸のずれが起らずに標本に不用意な振動を与えることがないレーザ顕微鏡を提供できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係わるレーザ顕微鏡の一実施の形態を示す平面構成図。

【図2】同レーザ顕微鏡の左側面からの構成図。

【図3】同レーザ顕微鏡の正面構成図。

【図4】従来の顕微鏡の構成図。

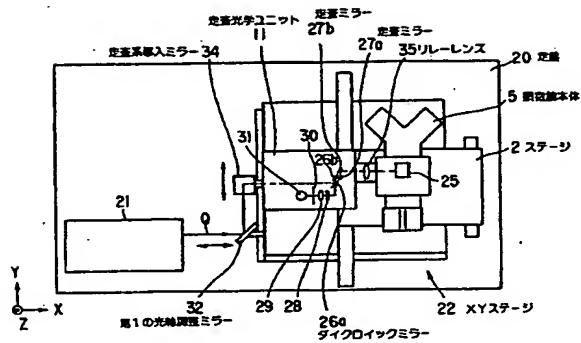
【符号の説明】

- 2：ステージ、
- 3：標本、
- 5：顕微鏡本体、
- 6：落射照明系、
- 24：結像レンズ、
- 7：対物レンズ、
- 8：接眼レンズ、
- 9：撮像光学素子、
- 11：走査光学ユニット、
- 20：定盤、
- 21：極短パルスレーザ発振器、
- 22：XYステージ、

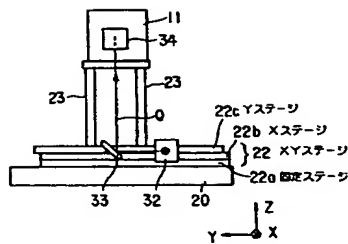
22a: 固定ステージ、
22b: Xステージ、
22c: Yステージ、

32: ミラー、
33: ミラー、
34: ミラー。

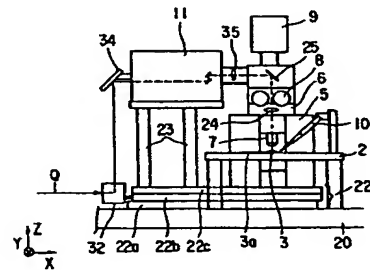
【図1】



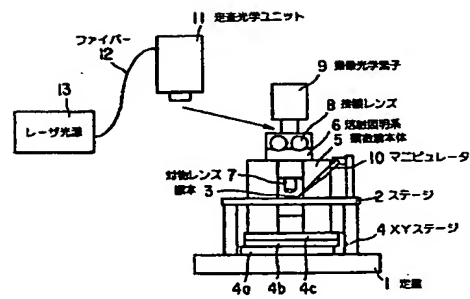
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G043 AA03 BA16 CA03 DA06 EA01
 FA01 FA02 GA02 GB01 GB19
 HA01 HA02 KA08 KA09 LA03
 2H052 AA08 AA09 AC04 AC07 AC15
 AC27 AC34 AD19 AF07 AF14
 AF19